



I ENCONTRO IBERO-AMERICANO DE PLANTAS MEDICINAIS DR. MAHABIR GUPTA

I CONGRESSO LUSO-BRASILEIRO DE CIÉNCIAS E TECNOLOGIAS EM SAÚDE

28 a 30 de setembro de 2022, Itajaí-SC-Brasil

Estudio de plantas de la Amazonía Boliviana: Experiencias y lecciones aprendidas

UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS (UMSA)

Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas Instituto de Investigaciones Fármaco Bioquímicas Área de Química Farmacéutica
Alberto Giménez: ajgimenez@umsa.bo



Programa de Formación Doctoral (PhD) UMSA-Asdi Proyecto Biomoléculas de Interés Medicinal e Industrial (2013-2030)

Estudios biológicos y químicos sobre la flora medicinal Tacana

Instituto de Investigaciones Fármaco Bioquímicas (IIFB) Área de Química Farmacéutica (AQF)





ASDI





1PhD Productos Naturales (2013-20)

Centre for Analysis and Synthesis (CAS)
Prof. Olov Sterner

1PhD *Giardia intestinalis* 2021-25

Department of Cell and Molecular Biology
Prof. Staffan Svärd

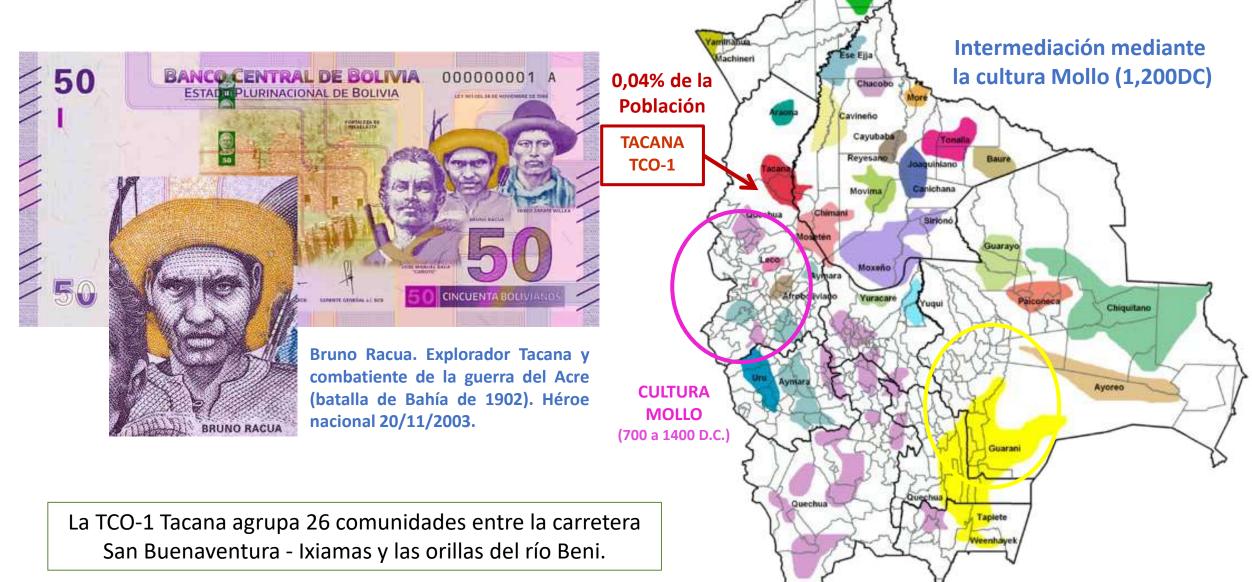


FCFB





Etnia Amazónica Tacana



UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS UMSA - ASDI - CIPTA - CIMTA

SABERES TRADICIONALES TACANA **y ACTIVIDAD BIOLÓGICA**





PARA QUE TODOS VIVAMOS SANOS CON NUESTRAS **MEDICINAS NATURALES**

PAMAPA S'AIDHA YANIPUJI EKUANAS'A **EIDHUEKUANANEJE**







La Paz - Bolivia





























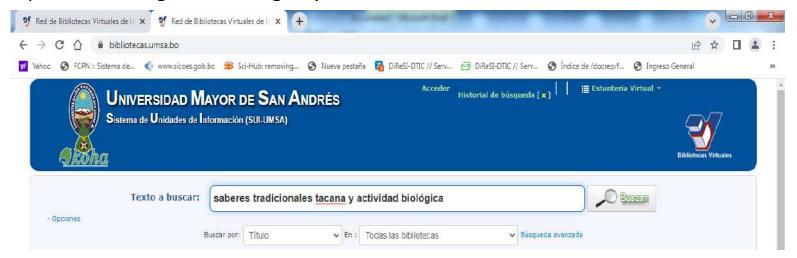




Ingresar a: https://bibliotecas.umsa.bo/

Aparecerá la siguiente imagen y escribir en texto a buscar: saberes tradicionales tacana y actividad biológica

/er documento en linea



OBJETIVO GENERAL: Utilizar la investigación como herramienta aportando alternativas a problemas nacionales de desarrollo y contribuir al rescate, documentación y validación de la medicina tradicional amazónica, generando conocimiento científico, a través de estudios químicos biodirigidos que permitan identificar los metabolitos activos, en especies utilizadas por la etnia Tacana en el tratamiento de algunas parasitosis.





RESULTADOS OBTENIDOS EN LA DOCUMENTACIÓN DE PLANTAS TACANA





CAMPO

- -152 plantas colectadas
- 64 familias botánicas,
- 134 géneros y
- 142 especies



- 146 aplicaciones,

- 13 dolencias y

- 106 afecciones

- Piel (21 afec),
 - Digestivas (10 afec.)
 - Vías urinarias (4 afec.)

Culturales

- 40 aplicaciones,

- 11 tópicos

- Fabricar objetos,
- Cosmética
- Alimentos







Benigno Chao (†

152 especies documentadas como medicinales y culturales

55 especies ya conocidas (36%)

97 especies documentadas por primera vez (64%)

75 plantas actúan a nivel de la piel,

72 a nivel del aparato digestivo,

46 construcción/leña/fabricación objetos

35 para diferentes dolores,

19 para sistema urinario,

14 para afecciones de los ojos,

12 como alimenticias

12 para problemas de la mujer,

4 para problemas del hombre,

9 a nivel del sistema respiratorio,

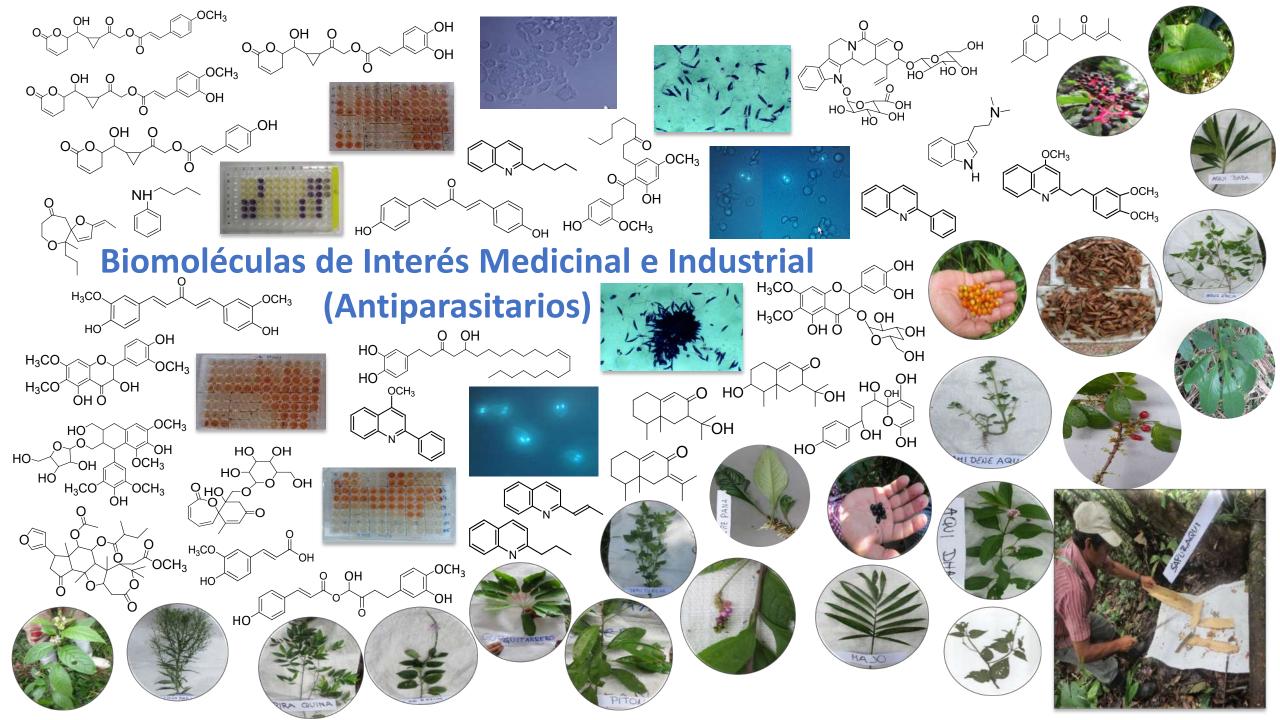
52 con otros usos



63% sin estudios previos al 2019

> 23% con algunos estudios previos

> > 14% con múltiples estudios



Estudio de plantas de la Amazonía Boliviana: Experiencias y lecciones aprendidas

Rescate de Conocimientos Tradicionales uso de plantas en salud y cultura - Tacana

Taxonomía sistemática de la biodiversidad útil

Importancia de la identificación botánica efecto en la química

Thuda - Piper spp



Documentación usos tradicionales

Apoyo a la conservación cultura y medioambiente posible aprovechamiento



Clasificación biológica identificación de las tóxicas

Notas de interés del laboratorio

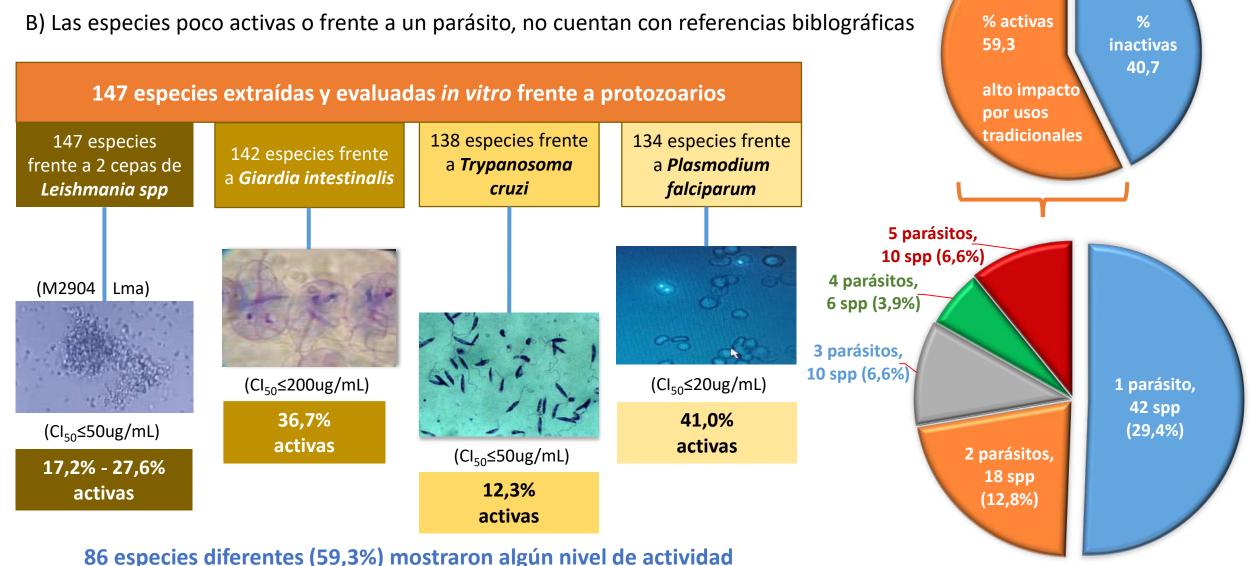


Leishmaniasis

Evanta Galipea longiflora

Kawara Tessaria integrifolia

A) Las especies más activas frente a varios parásitos, cuentan con múltiples referencias



86 especies diferentes (59,3%) mostraron algún nivel de actividad



IDENE EIDHUE

muy activa/5 parásitos

Hyptis brevipes (Poit)

Lamiaceae

4 brevipolidos

1 catecol

conocidos citotóxicos primera vez evaluados frente a protozoarios

Ivan Limachi et al. (2019) *Antiparasitic Metabolites from Hyptis brevipes, a Tacana Medicinal Plant*. Journal of Natural Products Communications, **14(1)**, 55 -58

EN HONOR A CUMPLEAÑOS DE MAHABIR

SAPURAQUI INA endémica / 1 parásito

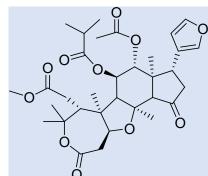
Trichilia adolfi (Hans) Meliaceae

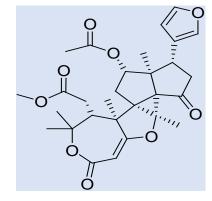
9 Limonoides NUEVOS nuevas estructuras complejas



4 Trichilianones A-D

todos inactivos en nuestros modelos





5 Trichilones A-E

Ivan Limachi, et al. (2021). Trichilianones A-D, Novel cyclopropane-type Limonoids from *Trichilia adolfi. Molecules*, **26**, 1019 https://doi.org/10.3390/molecules26041019

M. Gonzalez-Ramirez; et al. (2021). Trichilones A–E: New Limonoids from *Trichilia adolfi*. *Molecules*, **26**, 3070 https://doi.org/10.3390/ molecules26113070

37 especies asociadas a síntomas de Leishmaniasis

RESULTADOS OBTENIDOS EN ESTUDIOS ESPECÍFICOS CON RELACIÓN A USOS TRADICIONALES PARA LAS LEISHMANIASIS

2 cepas Lma y M2904

15 especies inactivas (40,6%)

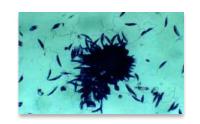
22 especies activas (59,4%)

9 spp sin estudios previos (24,3%)

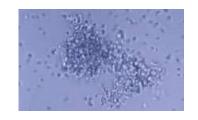
Estudios químicos biodirigidos frente a Lma / HeLa / RAW

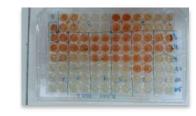
3 spp sin estudios previos (50%), los usos tradicionales nos pueden llevar a especies poco estudiadas

6 spp seleccionadas como selectivas para leishmaniasis





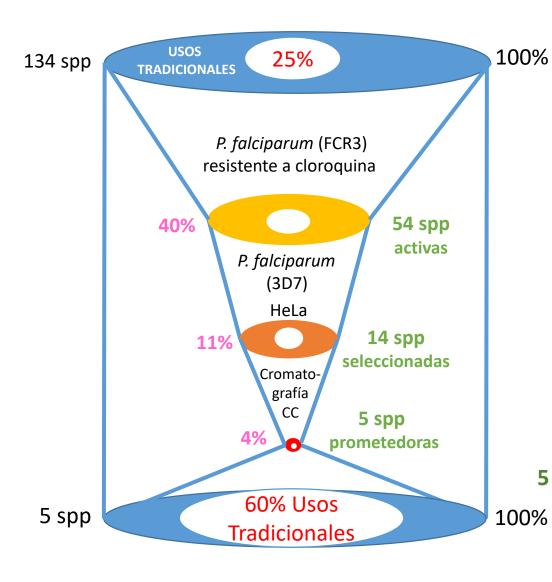






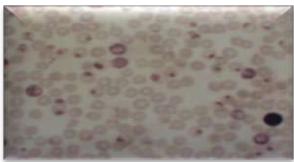
Diandra Arévalo-Lopéz et al.(2018) "Leishmanicidal and cytotoxic activity from plants used in Tacana traditional medicine (Bolivia)" Journal of Ethnopharmacology, **216**, 120-123

Estudios "doble ciego" frente a *Plasmodium falciparum*



Claudia Condo, et al. (2020). Actividad antiparasitaria in vitro de plantas de la medicina tradicional Tacana sobre Plasmodium falciparum a través del método fluorométrico-SYBR Green I. Con-Ciencia **8(1)**, 21-28





5 especies prometedoras, 3 relacionadas a usos tradicionales (60%)

Las otras 2, listadas como antipalúdicas en culturas africanas

Las 5 especies promisorias con diversas publicaciones.

LA IMPORTANCIA DE LA CLASIFICACIÓN SISTEMÁTICA BOTÁNICA EN LOS ESTUDIOS DE LA MEDICINA TRADICIONAL

THUDA - MATICO - *Piper spp*1998 - 2007



Proyectos:

CYTED X.5: "Búsqueda, obtención y evaluación de nuevos agentas antiparasitarios"

OEA 1 y 2: "Potencial de la flora medicinal de la región"

Tesis de MSc: Metabolitos bioactivos aislados de cinco especies *Piper* con actividad antifúngica y/o Leishmanicida Universidad Mayor de San Andrés, presentada por Esther Ninoska Flores Quisbert, septiembre 2001

Tesis de PhD: Metabolitos secundarios bioactivos de especies del género *Piper* de la flora Boliviana. Memorias presentada por la Lic. Esther Ninoska Flores Quisbert, para optar al grado de Doctor por la Universidad de La Laguna–IUBO-AG, junio 2007

Nombre Tacana = TUDHA - MATICO = 7 ESPECIES DIFERENTES DEL GENERO *Piper spp*



Piper aduncum





Piper heterophyllum





Piper glabratum





Piper elongatum



 $CI_{50} = 25,2\pm0,5 \,\mu g/mL$

AB = ácidos benzoicos F = Flavanonas, Flavonoides, Chalconas

 $CI_{50} = 69,7 \pm 0,9 \mu g/mL$

TUDHA – MATICO vs *L. amazonensis* (µg/mL)

P. aduncum HO. F-5 $CI_{50} = 6,2\pm0,9$ ÓН COOH **AB-16** ÓCH₃

Cl₅₀ =50,1±0,9

P. heterophyllum
$$COOH$$

$$COOH$$

$$CI_{50} = 4,1\pm0,5$$

$$COOH$$

$$CI_{50} = 52,1\pm3,4$$

$$COOH$$

$$CO_{2}H$$

 $CI_{50} = 35,2 \pm 4,2 \mu g/mL$

P. heterophyllum

COOH

B-7

$$CI_{50} = 4,1\pm0,5$$

COOH

 $CO_{2}H$
 $CI_{50} = 52,1\pm3,4$

OH

 $CI_{50} = 7.6 \pm 0.4 \mu g/mL$

$$H_3CO$$
 OH O OH O OCH₃ O OCH₃ O OCH₃ O OCH₅₀ =41,8±0,3 OH O

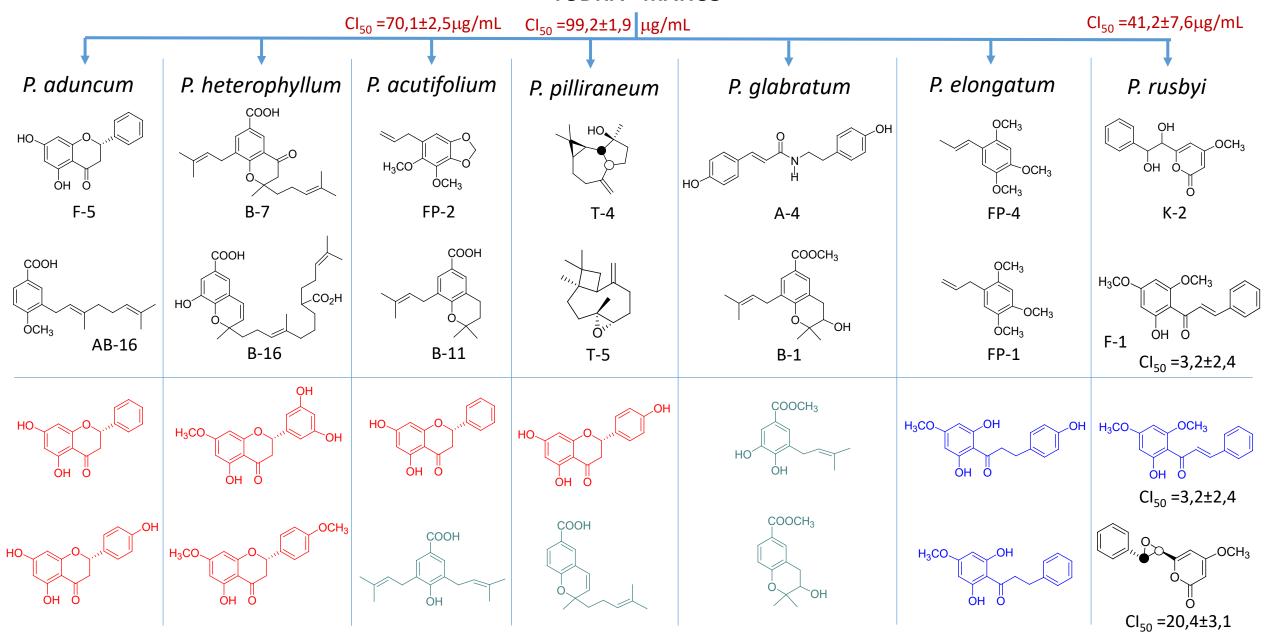
$$H_3CO$$
 OH OH

F-3 OH O

 $CI_{50} = 4.9 \pm 0.2$
 H_3CO OH

F-2 $CI_{50} = 10.1 \pm 1.6$ OH O

TUDHA - MATICO



YURUMA HUANA EPUNA – EVANTA – Galipea longiflora (Krause) 2000 - 2018



Proyectos:

CYTED X.5: "Búsqueda, obtención y evaluación de nuevos agentas antiparasitarios"

(2000-03). Formación de 2 PhD en la Laguna, Tenerife

OEA 1 y 2: "Potencial de la flora medicinal de la región"

(2001-04)

Junnes equipe: "Medicina tradicional y Biotecnología"

(2003-06)

UMSA-Asdi: "Estudios acuosos de la Galipea longiflora"

(2006-08)

UMSA-Asdi: "Enfermedades infecciosas: Evanta en el tratamiento de la Leishmaniasis"

(2006-12). Estudio de caso sobre eficacia clínica en leishmaniasis cutánea, Palos Blancos, Bolivia

UMSA-IDH: "Desparasitación de niños en escuelas rurales"

(2009-14)

UMSA-Asdi: "Biomoleculas de interés medicinal e industrial"

(2013-20)

UMSA-Asdi: "Bioprospección Tacana"

(2015-18)

UMSA-Asdi: "Evanta – Etiopía"

(2015-18). Estudio multicéntrico sobre Leishmania cutánea, Debre Tabor, Etiopía.

Syn. Galipea = Angostura

152. YURUMA HUANA EPUNA

EVANTA - HEMBRA Galipea longiflora (Rutaceae)

COMPOSICIÓN QUIMICA RESPUESTA BIOLÓGICA

ESTUDIOS DE EFICACIA CLÍNICA LEISHMANIA CUTANEA **BOLIVIA**

PROPUESTA DE ESTUDIOS EN LEISHMANIA CUTÁNEA EN ETIOPIA



Significado del nombre:

No tiene significado

Otros nombres:

Evanta, Evanta hembra

Género y especie:

Galipea longiflora Krause

Familia:

Rutaceae

Muestra de herbario:

SD 17

Clase de planta:

Árbol grande (4-5 metros)

Lugar de colecta:

Santa Rosa de Maravilla

13°57'116"S; 68°00'242"W (303 msnm)

Fecha de colecta:

Junio, 2017.

Usos medicinales:

Diarrea; fortificante para niños y adultos; espundia.

Forma de preparación y tratamiento:

Diarrea: sancochar la corteza molida y beber dos vasos por día durante tres días continuos.

Fortificante: sancochar la corteza molida y tomar una copita en ayunas todos los días.

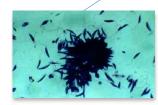
Espundia: la corteza seca y molida, preparar como cataplasma y aplicar sobre la úlcera, cambiar dos veces por día hasta mejoría.

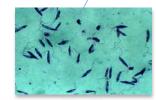
Resultados de laboratorio:

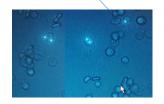
Órgano colectado	% extracto	Leishmania spp.		Trypanosoma	Plasmodium	Giardia
		Lma	M2904	cruzi	falciparum	lamblia
colectado		CI _{se} µg/mL				
Corteza	5,0	15,0±4,3	16,1±2,0	11,9±2,0	9,9±4.5	36,0±7,0

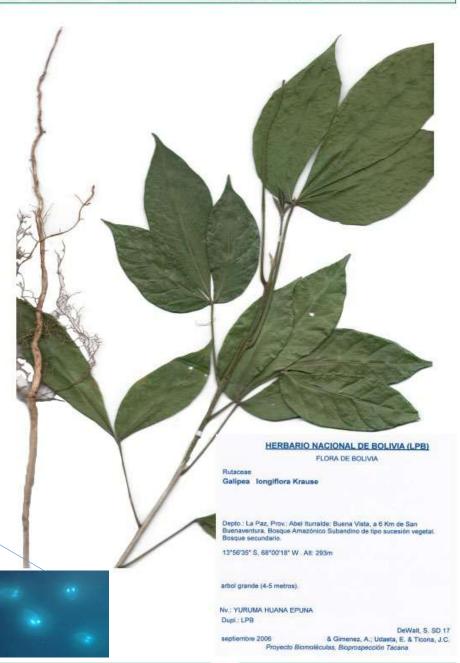
Comentarios:

El extracto de corteza de esta planta mostró actividad biológica frente a todas las cepas evaluadas.

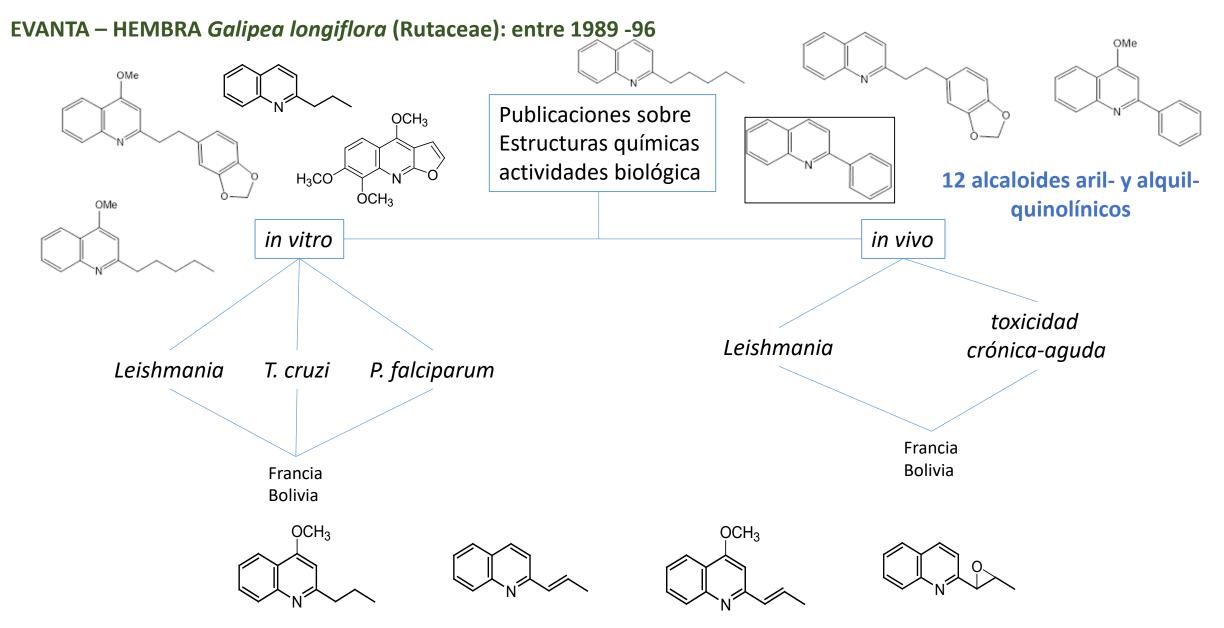






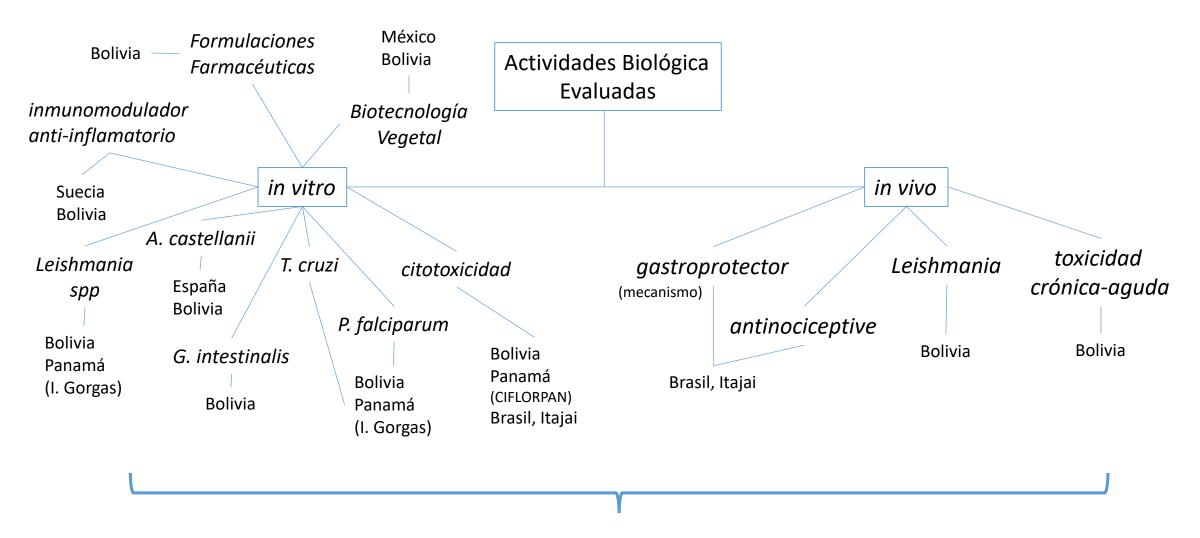


327

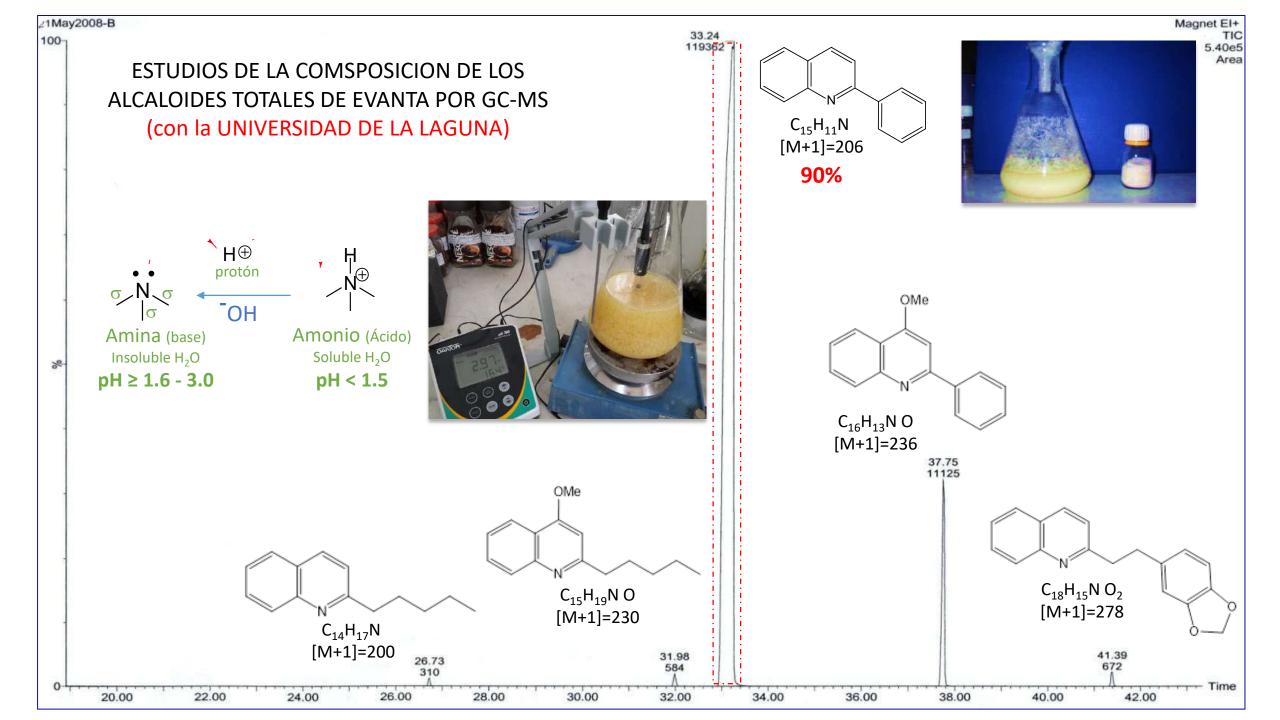


4 alcaloides quinolínicos patentados para tratamiento de Leishmaniasis

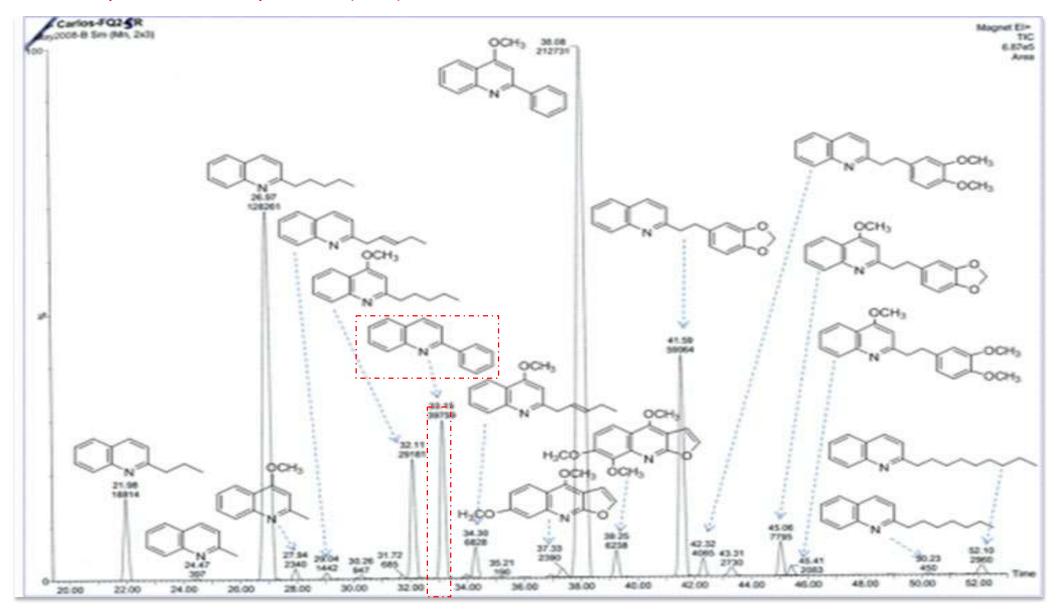
EVANTA – HEMBRA Galipea longiflora (Rutaceae): Actividades evaluadas entre 2000 - 17



UMSA-Asdi: "Enfermedades infecciosas: Evanta en el tratamiento de la Leishmaniasis cutánea" (2004-12) Estudio de caso sobre eficacia clínica en leishmaniasis cutánea, Palos Blancos, Bolivia



Composición de CAT-2FQ por GC-MS después de Precipitar la 2-fenil-quinolina (72%)



96-98% Composición Química de Alcaloides Totales CAT en Formulaciones Farmacéuticas



CAT IC₅₀ 20-30 ug/mL



15-45%

50-80%

50 <IC₅₀< 100

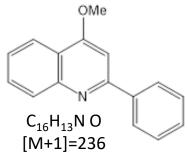
[ug/MI]

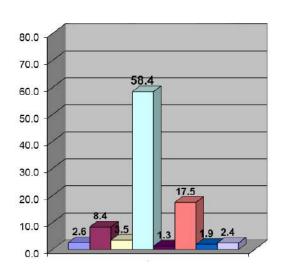
20 < IC₅₀ < 30 ug/mL

1-5%

OMe

 $C_{14}H_{17}N$





"Estudios químicos, biológicos y farmacológicos de Galipea longiflora, Krause" A. Giménez, et al. (2005) Revista Boliviana de Química. Vol 22 No 1, 94-107

EJEMPLOS DE APARENTE CURA CLINICA y FRACASO DESPUES DE 2 MESES DE TRATAMIENTO DIARIO CON CREMA Y JARABE DE EVANTA (Junio 2007 a Diciembre 2012)

ÉXITO: Paciente LC-03-CCR-160284

60 pacientes
en 6 años!!
30 con Evanta
30 con Glucantime









Inicio TT

2 meses

Fin TT —

2 meses 2 M PT7

4 meses

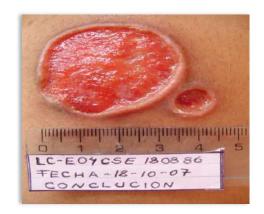
6 M PTT

FRACASO: Paciente LC-E04-CSE-160985

Eficacia de
Evanta cercana
Al 70%
Eficacia de
Glucantime
Cercana al 93%









Inicio TT

T 2 meses Fi

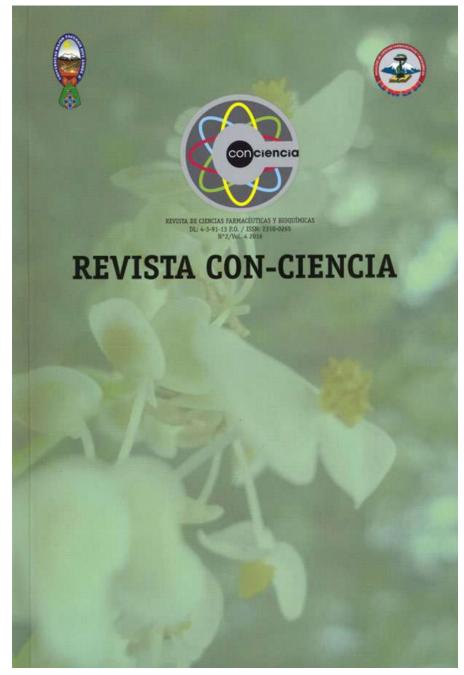
Fin TT

1 semana

1 S PTT

GLUCANTIME

4 meses





Armaeur Hansen Research Institute - AHRI



Gadisa Endalamaw, Salamanca Efrain; Aseffa Habraham, Ticona Juan Carlos, Udaeta Enrique, Flores Ninoska, Chuqui Rogelio, Giménez Alberto (2017) *Con-Ciencia* No 2, Vol 4, 11-19

REVISTA CON-CIENCIA Nº2/VOL. 4 (NOVIEMBRE 2016) Pag. 11-19 ISSN: 2310-0265





Estudios de susceptibilidad de cepas de Leishmania aethiopica frente a alcaloides de Galipea longiflora (Evanta)

Susceptibility studies on Leishmania aethiopica strains against total alkaloids from Galipea longiflora (Evanta)

Problem Statement

Bolivia, reports between 2,000 to 2,500 new cases of leishmaniasis per year

Could our clinical validation experience, be replicated in Ethiopia?

Ethiopia, reports between 20,000 to 30,000 new cases of leishmaniasis per year









MOLECULAR AND MECHANISTIC STUDIES ON EVANTA ALKALOIDS AND PRODUCTION OF EVANTA BASED PHARMACEUTICAL FORMULATIONS, FOR EFFICACY VALIDATION, WITHIN A PILOT STUDY, AGAINST CUTANEOUS LEISHMANIASIS IN ETHIOPIA – (EVANTA ETIOPIA)

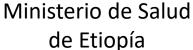
Ministerio de Salud de Bolivia



MINISTERIO DE SALUD Y DEPORTES



- Respaldar documentación de estudio de caso en Bolivia
- Entregar Registro Sanitario a las cremas de Evanta
- Certificar Buenas Prácticas de Laboratorio (WHO)
- Generar Certificado de exportación para Etiopía





የዜታቸ ጤና ስሃፖር ብልጽ ግና

VACIOS LEGALES

Nuestros esfuerzos por desarrollar estudios clínicos de eficacia (locales e internacionales) han permitido identificar la necesidad de mejorar las normas de la ley del medicamento, que no reconoce a las universidades como generadoras de tratamientos experimentales de la Medicina Tradicional y Ancestral.









RSL-390/2018

CERTIFICADO REGISTRO DE LOTE

La Agencia Estatal de Medicamentos y Tecnologías en Salud, del Ministerio de Salud, a solicitud de

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES FARMACO BIOQUIMICAS, certifica el registro de lote del

siguiente medicamento

Nombre Comercial:

EVANTA OINTMENT 2%

Nombre Genérico (DCI):

EVANTA - GALIPEA LONGIFLORA

Formula Cuali-Cuantitativa:

CANTIDAD TEORICA POR UNIDAD DE DOSIFICACIÓN DE 18G:

CAT (ALCALOIDES TOTALES DE CORTEZA) 360MG;ALCOHOL CETILICO 990MG;ALCOHOL CETOESTEARILICO 990MG;LAURIL SULFATO DE SODIO 450MG; VASELINA SOLIDA 990MG; PROPILENGLICOL Y OTROS.

Pais de Origen:

BOLIVIA

Laboratorio Fabricante:

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES FARMACO BIOQUIMICAS - UMSA

Distribuido por

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES FARMACO BIOQUIMICAS - UMSA

Forma Farmacéutica:

CREMA DERMICA

Nº de LOTE :

E-18/1

Fecha de Fabricación:

01/07/2017

Fecha de Expiración:

30/07/2019

Presentación:

POMO x 18 G.

Cantidad Recibida 83 POMOS X 18G C/U

Este certificado, se basa como mínimo, en la revisión y evaluación técnica de la documentación requerida según lo establece el Manual para Registro Sanitario (Cap. VI).

La Paz, 2 de Enero de 2018















KAWARA- *Tessaria integrifolia* (Ruiz & Pavon) 2014 - 2022



Proyectos:

UMSA-Asdi: "Biomoleculas de interés medicinal e industrial"

(2013-25)

UMSA-Asdi: "Bioprospección Tacana"

(2015-18)

KAWARA Tessaria integrifolia (Compositae)

METODOLOGIA
ANÁLISIS QUIMICO
Y
RESPUESTA BIOLÓGICA

ESTUDIOS DE
CARACTERIZACIÓN
QUÍMICA
MARCADORES
CUALI/CUANTI

FORMULACIÓN TÓPICA PARA LEISHMANIA CUTÁNEA

84. KAWARA



Significado del nombre:

No tiene significado

Otros nombres:

Cawuara

Género y especie:

Tessaria integrifolia Ruiz & Pav.

Familia:

Compositae

Muestra de herbario:

AS 14

Clase de planta:

Árbol mediano (3-5 metros)

Lugar de colecta:

Buena Vista

14°22'048"S; 67°34'064"W (205 msnm)

Fecha de colecta:

Julio, 2014

Usos medicinales:

Picadura de raya; espundia.

Forma de preparación y tratamiento:

Picadura de raya*: aplicar las hojas tiernas con sal como cataplasma sobre la picadura.

Espundia: estrujar las hojas frescas sobre la herida para limpiar; luego aplicar como cataplasma el polvo seco de las hojas y cáscara sobre la herida, cambiar el cataplasma cuando caiga.

Otros usos culturales:

Es utilizado para la construcción de techos y cercas en las casas.

Resultados de laboratorio:

Órgano colectado	% extracto	Leishmania spp.		Trypanosoma	Plasmodium	Giardia
		Lma	M2904	cruzi	falciparum	lamblia
colectado		CI _{so} µg/mL			,	
Hojas	4,3	>50	31,6±14,8	>50	>20	>200
Ramas	1,4	>50	>50	>50	>20	>200

Comentarios:

El extracto de hojas de esta planta mostró actividad frente a *Leishmania*: M2904, siendo de bajo interés biológico frente las demás cepas evaluadas.

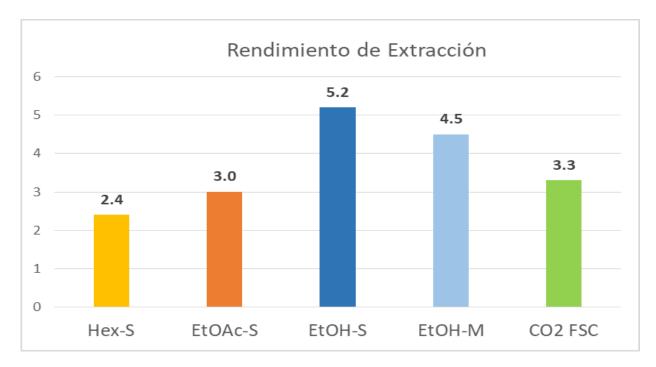
Raya: Pez de río.

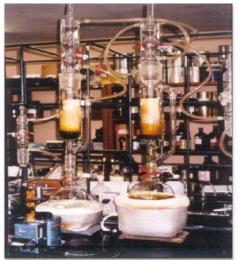


191

190

Estudios de extracción de Kawara







Valores de IC₅₀ en μg/mL

Código	Lma	M2904
C02-FSC	43,3±1,5	22,2±1,0
EtOH-M	52,0±7,4	40,0±2,0
EtOAc-S	52,0±9,0	40,2±1,5
Hex-S	78,3±6,3	41,2±1,2
EtOH-S	87,0±1,3	54,0±5,1
CAT	24,2±0,2	23,0±0,8
Miltefosina	4,3±1,2	8,0±2,1



Proceso para generar un perfil cromatográfico por HPLC-DAD-MS de Kawara

Kawara Extracto crudo (EC)

CO₂-FSC



EC adsorbido en gel de sílice (1: 5 w/w)

Lavado con solventes en polaridad creciente

[1] Hexano

[2] Hexano : EtOAc (95 : 5 v/v)

[3] EtOAc : MeOH (80 : 20 v/v)



Código KF -1	Lma >100	M2904 >100
KF - 2	21,7±0,6	17,0±4,0
KF - 3	16,6±2,0	12,2±1,0

[1]

KF-1 (4,6±0,8%)

[2]



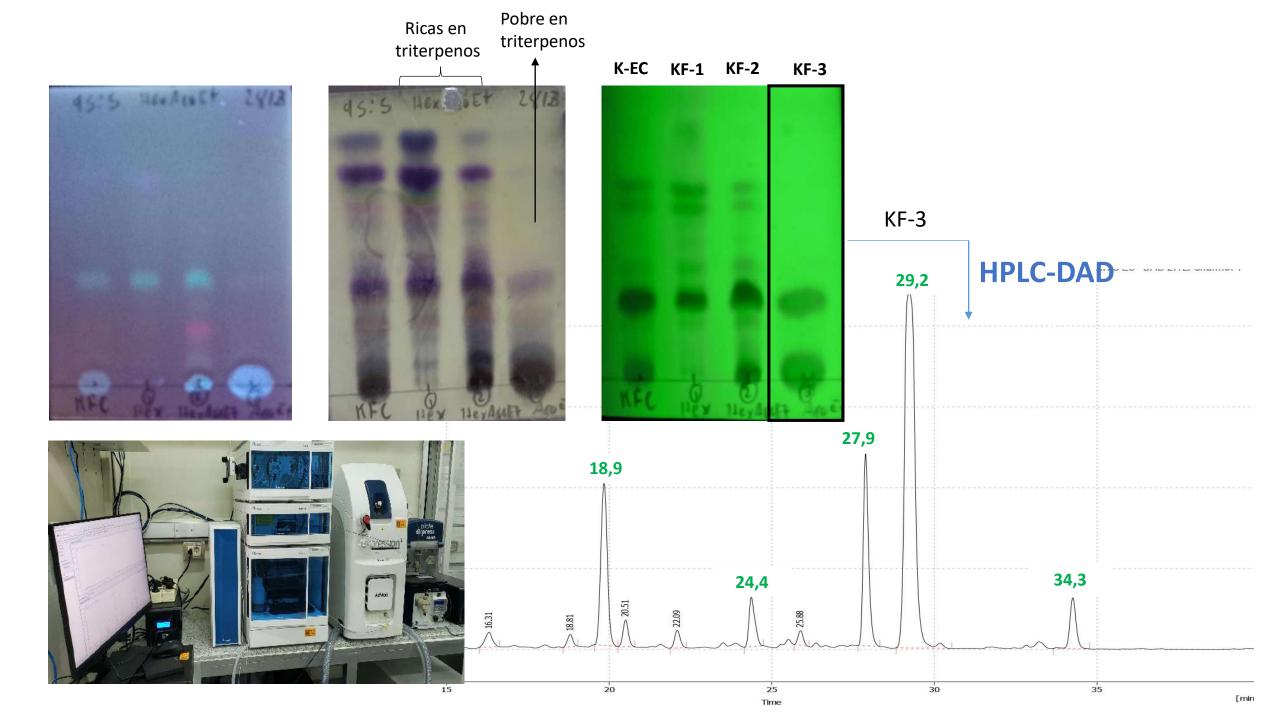
KF-2 (29,4±2,1%)

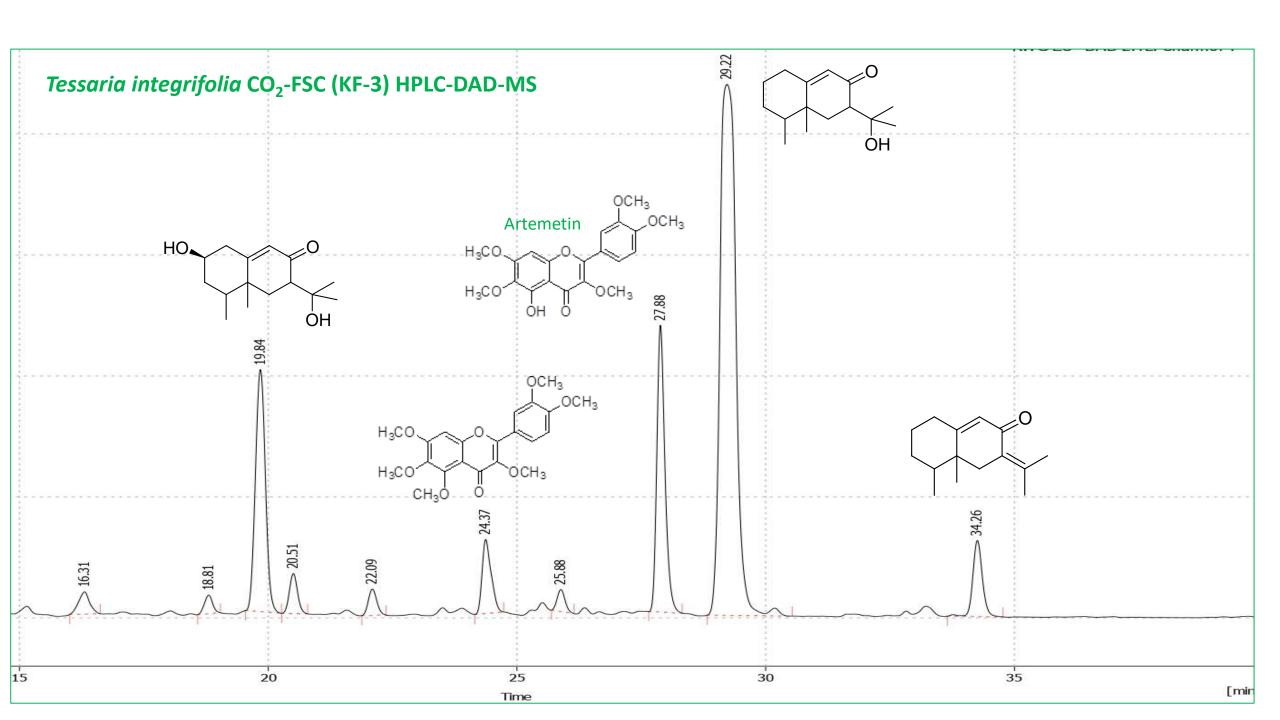
[3]

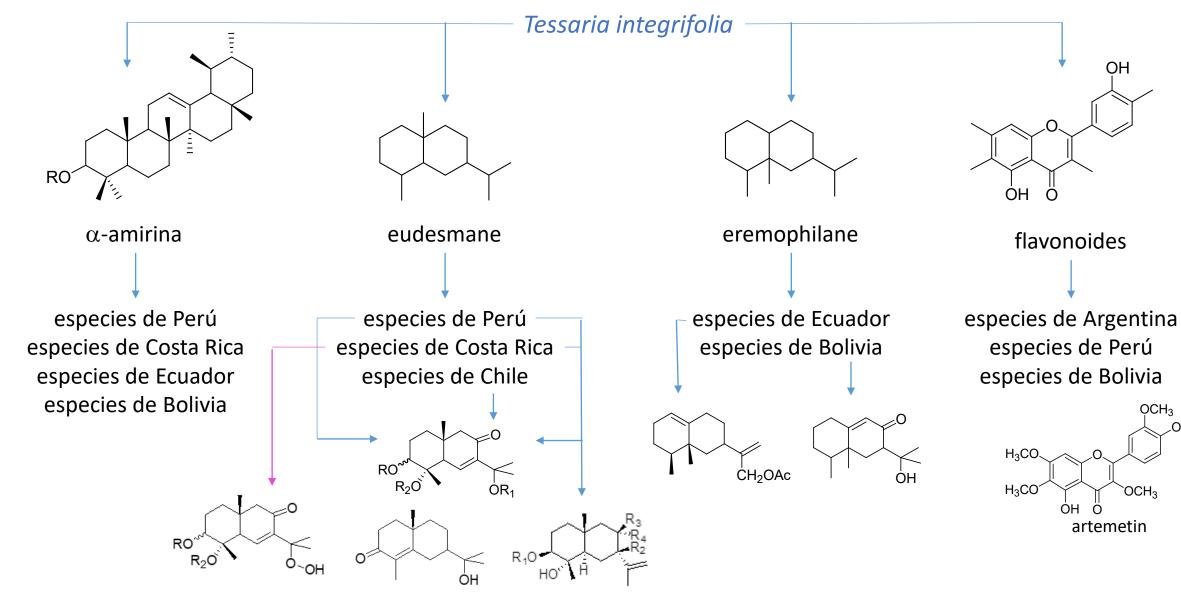


KF-3 (66,0±2,5%)

Código	Giardia
K-EC	91,0±11,3
KF -1	191,0±12,0
KF - 2	82,1±4,3
KF - 3	42,6±3,2
Tinidazol	0.04







OH

 OCH_3

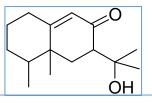
OCH₃

No citotóxicos

DESARROLLO DE MODELOS BIOLÓGICOS CON AMASTIGOTES INTRACELULARES – Células RAW

(1:30)

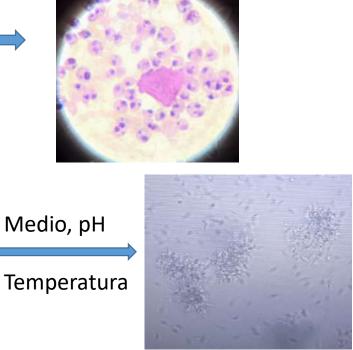




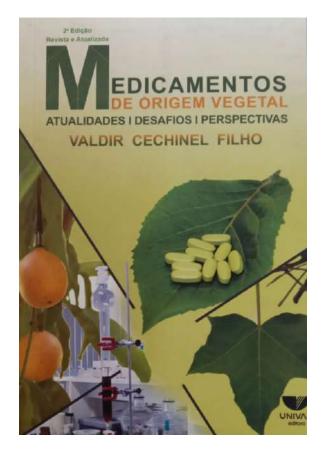
 CI_{50} = 10,2±1,0 Lma CI_{50} = 16,0 ±4,0 M2904 CI_{50} = 79,0 ±4,0 RAW IS = 7.7

> Conteo óptico Frente a control Trabajo laborioso Subjetivo (Gold-standard)

PCR-RTq Modelo costo Kits para RNA y protocolos PCR Transformación en
Promastigotes
Modelo más accesible
En nuestro medio
Bien documentado en
la literatura (2012-22)

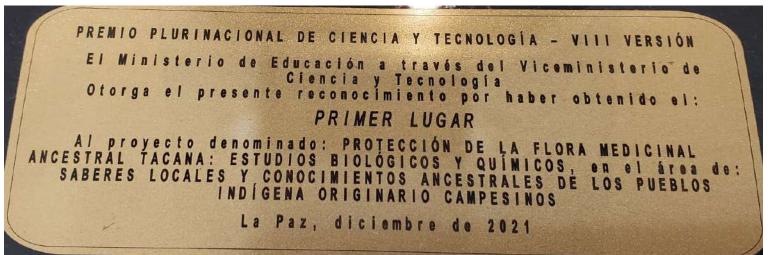






Robert Robson, há cerca de 100 anos, mas sempre muito atual "Uma planta pode conter centenas de substâncias diferentes. Mas a descoberta de uma só delas pode ser mais importante para a humanidade do que a descoberta de uma nova galáxia".

Trabajos del 2016-21





Conclusiones

- La importancia de participar en redes internacionales ya que permiten conseguir y acumular información química y biológica, más allá de las capacidades instaladas en un laboratorio, como el nuestro, y que arrojan resultados que permitan respaldar la ejecución de estudios clínicos.
- Rescate de usos tradicionales que al mismo tiempo de documentar usos y costumbres, nos permite ir desglosando y conociendo la impresionante biodiversidad útil de nuestra amazonia
- Importancia de trabajar sobre especies vegetales correctamente identificadas en los respectivos Herbarios Nacionales, antes de iniciar los estudios químico-biológicos, debido las diferencias abrumadoras en relación a la composición química de los extractos de cada especie.
- Existencia de vacíos legales, a nivel Bolivia, en la normativa de la ley del Medicamento, que dificultan realizar estudios de valoración-validación-eficacia de especies utilizadas en medicina tradicional y que impiden desarrollar estudios multi-céntricos, como recomendado por la WHO en estudios de validación de plantas medinales.
- El desarrollo de tratamientos alternativos en Leishmaniasis, a base de especies de uso tradicional, requiere de un estudio químico detallado, para documentar composición de los extractos a utilizarse y además requiere de contar con modelos biológicos cercanos al proceso infeccioso de la enfermedad. Un desafío más fácil de comentar que ejecutar.

EDITORES AQF-IIFB-UMSA



A. Giménez



E. Udaeta



N. Nina



J.C. Ticona



E. Salamanca



I. Limachi



N. Flores



C. Paredes



MUCHAS GRACIAS POR SU ATENCIÓN

EDITORES TACANA: COMUNIDAD BUENA VISTA



A. Serato



N. Marupa



B. Chao